


 INTERNATIONALE ANMELDUNG VERÖFFENTLICHT NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE
 INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS (PCT)
(51) Internationale Patentklassifikation⁶ :

A61K 31/195

A1

(11) Internationale Veröffentlichungsnummer: WO 97/40827

(43) Internationales

Veröffentlichungsdatum:

6. November 1997 (06.11.97)

(21) Internationales Aktenzeichen:

PCT/EP97/02175

(22) Internationales Anmeldedatum:

26. April 1997 (26.04.97)

(30) Prioritätsdaten:

196 16 992.5

27. April 1996 (27.04.96)

DE

 (71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten ausser US): AN-
 ALYTICON AG BIOTECHNOLOGIE PHARMAZIE
 [DE/DE]; Gustav-Meyer-Allee 25, D-13355 Berlin (DE).

 (71)(72) Anmelder und Erfinder: DOERR, Hans, Wilhelm
 [DE/DE]; Breitseeweg 21, D-63303 Dreieich (DE).

(72) Erfinder; und

 (75) Erfinder/Anmelder (nur für US): BINDSEIL, Kai, Uwe
 [DE/DE]; Letteallee 93, D-13409 Berlin (DE). MÜLLER-
 KUHRT, Lutz [DE/DE]; Wublitzweg 12a, D-14089 Berlin
 (DE). RABENAU, Holger [DE/DE]; Egenolfstrasse 38,
 D-60316 Frankfurt (DE). CINATL, Jindrich [DE/DE];
 Johann-Sebastian-Bach-Strasse 17, D-63179 Obertshausen
 (DE).

 (74) Anwälte: MEYERS, Hans-Wilhelm usw.; Postfach 10 22 41,
 D-50462 Köln (DE).

 (81) Bestimmungsstaaten: AL, AU, BA, BB, BG, BR, CA, CN,
 CU, CZ, EE, GE, HU, IL, IS, JP, KP, KR, LC, LK, LR,
 LT, LV, MG, MK, MN, MX, NO, NZ, PL, RO, SG, SI, SK,
 TM, TR, TT, UA, US, UZ, VN, YU, ARIPO Patent (GH,
 KE, LS, MW, SD, SZ, UG), eurasisches Patent (AM, AZ,
 BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europäisches Patent (AT,
 BE, CH, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC,
 NL, PT, SE), OAPI Patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA,
 GN, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Veröffentlicht

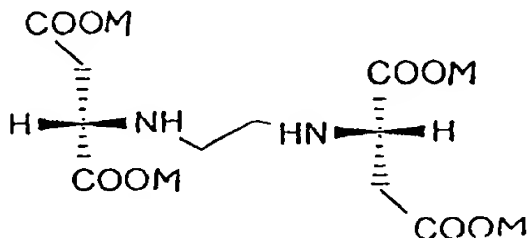
Mit internationalem Recherchenbericht.

(54) Title: USE OF ETHYLENE DIAMINE DISUCCINATE FOR PREPARING A MEDICAMENT WITH ANTIVIRAL PROPERTIES

(54) Bezeichnung: VERWENDUNG VON ETHYLENDIAMINDISUCCINAT ZUR HERSTELLUNG EINES ARZNEIMITTELS MIT ANTIVIRALEN EIGENSCHAFTEN

(57) Abstract

The use is disclosed of (S,S)-N,N'-ethylene diamine disuccinate (EDDS) of formula (I), in which M = H⁺ and/or stands for any pharmaceutically acceptable cation, for preparing a medicament for treating infections by cytomegaloviruses with immunosuppressive properties.



(I)

(57) Zusammenfassung

Verwendung von (S,S)-N,N'-Ethylendiamindisuccinat (EDDS) der Formel (I), wobei M = H⁺ und/oder irgendein pharmazeutisch annehmbares Kation darstellt, zur Herstellung eines Arzneimittels zur Behandlung von Infektionen gegen Cytomegalieviren mit immunsuppressiven Eigenschaften.

LEDIGLICH ZUR INFORMATION

Codes zur Identifizierung von PCT-Vertragsstaaten auf den Kopfbögen der Schriften, die internationale Anmeldungen gemäss dem PCT veröffentlichen.

AL	Albanien	ES	Spanien	LS	Lesotho	SI	Slowenien
AM	Armenien	FI	Finnland	LT	Litauen	SK	Slowakei
AT	Österreich	FR	Frankreich	LU	Luxemburg	SN	Senegal
AU	Australien	GA	Gabun	LV	Lettland	SZ	Swasiland
AZ	Aserbaidshan	GB	Vereinigtes Königreich	MC	Monaco	TD	Tschad
BA	Bosnien-Herzegowina	GE	Georgien	MD	Republik Moldau	TG	Togo
BB	Barbados	GH	Ghana	MG	Madagaskar	TJ	Tadschikistan
BE	Belgien	GN	Guinea	MK	Die ehemalige jugoslawische Republik Mazedonien	TM	Turkmenistan
BF	Burkina Faso	GR	Griechenland			TR	Türkei
BG	Bulgarien	HU	Ungarn	ML	Mali	TT	Trinidad und Tobago
BJ	Benin	IE	Irland	MN	Mongolei	UA	Ukraine
BR	Brasilien	IL	Israel	MR	Mauretanien	UG	Uganda
BY	Belarus	IS	Island	MW	Malawi	US	Vereinigte Staaten von Amerika
CA	Kanada	IT	Italien	MX	Mexiko	UZ	Usbekistan
CF	Zentralafrikanische Republik	JP	Japan	NE	Niger	VN	Vietnam
CG	Kongo	KE	Kenia	NL	Niederlande	YU	Jugoslawien
CH	Schweiz	KG	Kirgisistan	NO	Norwegen	ZW	Zimbabwe
CI	Côte d'Ivoire	KP	Demokratische Volksrepublik Korea	NZ	Neuseeland		
CM	Kamerun			PL	Polen		
CN	China	KR	Republik Korea	PT	Portugal		
CU	Kuba	KZ	Kasachstan	RO	Rumänien		
CZ	Tschechische Republik	LC	St. Lucia	RU	Russische Föderation		
DE	Deutschland	LI	Liechtenstein	SD	Sudan		
DK	Dänemark	LK	Sri Lanka	SE	Schweden		
EE	Estland	LR	Liberia	SG	Singapur		

Verwendung von Ethylendiamindisuccinat zur Herstellung
eines Arzneimittels mit antiviralen Eigenschaften

Die Erfindung betrifft die Verwendung von Ethylendiamindisuccinat einschließlich verträglicher salzbildender Ionen und der protonierten Form zur Herstellung eines Arzneimittels mit antiviralen Eigenschaften, das auch immunsuppressive Wirkung aufweist.

(S,S)-N,N'-Ethylendiamindisuccinat wird ausführlich in der Publikation von Takaaki NISHIKIORI et al. (1984), The Journal of Antibiotics, Vol. 37, Nr. 4: 426 - 427 beschrieben. (S,S)-N,N'-Ethylendiamindisuccinat kann aus Aktinomyceten gewonnen werden und läßt sich ebenfalls synthetisch herstellen (J. A. Neal and N. J. rose (1968), Inorg. Chem. Vol. 7; 2405 - 2412). Es inhibiert die Phospholipase C und D. Wird (S,S)-N,N'-Ethylendiamindisuccinat Mäusen intraperitoneal verabreicht, wird die Antikörperproduktion und die DTH-Reaktion (delayed type hypersensitivity) unterdrückt. Die Blastogenese der B-Zellen und T-Zellen wird in vitro supprimiert. Jedoch wird keine antimikrobielle Wirkung in dieser Publikation beschrieben. Die Toxizität bei Mäusen ist relativ gering.

Die Cytomegalieviren (CMV) bilden eine Gruppe artverwandter Viren, die zu den Herpes Viren zählen (Lutz Schneider (1990), Pharmazeutische Zeitung, Vol. 135, Nr. 27, 2396 - 2400). Nach einer Erstinfektion verbleiben die Viren latent im Körper. Erst wenn das Immunsystem durch eine medikamentöse oder durch Krankheit bedingte Immunsuppression geschwächt wird, werden die Viren reaktiviert. Den Namen erhielten die Viren, weil sie histopathologisch nachweisbare Riesenzellen mit randständigem großen Kern und Viren als Einschlusskörper verursachen.

Die Viren sind ubiquitär. Die Durchseuchung der Population schwankt von 30% bis 85%, ja 95%. Die Infektion verläuft bei Erwachsenen mit einem funktionstüchtigen Immunsystem unauffällig und zeigt höchstens unspezifische Symptome, wie Abgeschlagenheit und leicht erhöhte Körpertemperatur.

Bei immungeschwächten Erwachsenen stehen bei CMV-Infektionen pulmonale Erkrankungen, Adernetzhaut-Entzündungen und Magen-Darm-Erkrankungen im Vordergrund. Bei AIDS-Patienten verursachen CMV-Infektionen die meisten Todesfälle.

Da mit steigendem Alter auch die Inzidenz der CMV-Infektionen steigt, wird augenblicklich diskutiert, inwieweit die Cytomegalieviren an der arteriellen Plaque-Bildung beteiligt sind. Die Viren sind in der Lage, Endothelzellen der Gefäßwände zu schädigen.

Verschiedene Substanzen werden zur Behandlung gegen das Cytomegalievirus diskutiert.

In der Publikation von J. Cinatl et al. (1994), Antiviral Research, Vol. 25: 73 - 77 wird Desferrioxamin beschrieben, das Eisenchelate bildet. Diese Substanz kann in in vitro-Versuchen gegen Herpes simplex-Viren, Varicella zoster-Viren, Epstein-Barr-Viren und humane Cytomegalieviren erfolgreich eingesetzt werden. Dabei wird die Wirkung der Substanz auf

eine Chelatbildung mit den Eisen-Ionen zurückgeführt. Weiterhin soll auch die zelluläre Ribonukleotid-Reduktase inhibiert werden. Jedoch sind die bisherigen Befunde zum Teil in der Theorie widersprüchlich. Die Substanz zeigt eine geringe Toxizität.

Foscarnet ist eine antivirale Substanz mit in Zellkulturen nachgewiesener selektiver Aktivität gegen Humanviren der Herpes-Gruppe, wie zum Beispiel Herpes simplex, Varicella zoster, Epstein-Barr und Cytomegalie-Viren sowie Hepatitis-Viren. Die antivirale Wirkung beruht auf einer Hemmung viraler Enzyme, wie DNA-Polymerasen und reversen Transkriptasen. Auf Cytomegalieviren wirkt Foscarnet virostatisch, jedoch können die Viren nicht eliminiert werden (Lutz Schneider (1991), Pharmazeutische Zeitung, Vol. 136, Nr. 46, 33 - 36). Eine wesentliche Problematik der Cytomegalievirus-Infektion stellt die Notwendigkeit der bisweilen lebenslangen Dauerbehandlung der Patienten dar. Nachteilig ist weiterhin, daß die Cytomegalieviren in der letzten Zeit resistenter gegen diese Substanz geworden sind (Stanat et al. (1991), Antimicrob. Agents, Chemother., Vol. 35, Nr. 11: 2191 - 2197 und Knox et al. (1991), Lancet, Vol. 337: 1292 - 1293).

Ganciclovir wird in der Publikation von Lutz Schneider (1990), Pharmazie, Vol. 135, Nr. 37, 2396 bis 2400 beschrieben. Ganciclovir gehört zu den Nucleosid-Antimetaboliten, die sich vom 2'-Desoxiguanosin ableiten. Es trägt anstelle der 2'-Desoxyribose eine acyclische Seitenkette und unterscheidet sich von Aciclovir nur durch eine zusätzliche Hydroxymethylgruppe in der Seitenkette. Ganciclovir ist zugelassen zur Behandlung lebens- oder augenlichtbedrohender Cytomegalieviren-Infektionen bei Patienten mit erworbener Immunschwäche oder medikamentöser Immunsuppression zum Beispiel nach Organtransplantationen. Obwohl Ganciclovir auch bei anderen menschenpathogenen Herpesviren (HSV 1 und 2, Varicella zoster und Epstein-Barr) wirksam ist, verbietet sich wegen der hohen Nebenwirkungsrate die Verwendung bei

derartigen Infektionen. Ganciclovir führt dabei zu Neutropenie, weiterhin wurde beobachtet, daß Mäuse Tumoren unter der Behandlung ausbildeten. Nachteilig ist weiterhin, daß die Cytomegalieviren in der letzten Zeit resistenter gegen diese Substanz geworden sind (Stanat et al. (1991), Lancet, Vol. 337: 1292 - 1293).

In der WO 94/22438 (DINU, Anmeldetag: 29. Dezember 1993) wird Diethylentriaminpentaessigsäure zur Behandlung von Herpes simplex, Varicella zoster, Encephalomyelitis, Polyradiculoneuritis, multiple Sklerose, nicht jedoch von Cytomegalieviren beschrieben. Immunsuppressiva, wie Cyclosporin A oder Tacrolimus werden erfolgreich bei Organtransplantationen eingesetzt, um Abstossungsreaktionen zu vermeiden oder abzumildern. Nachteilig ist dabei natürlich die Anfälligkeit der behandelten Patienten für schwerwiegende Komplikationen, die durch virale und bakterielle Infektionen bedingt sind. Insbesondere ist in diesem Zusammenhang die Infektion mit Cytomegaloviren zu nennen.

Das der Erfindung zugrundeliegende technische Problem ist es, eine Verbindung mit antiviraler Wirkung bereitzustellen, die auch eine immunsuppressive Wirkung besitzt.

Es war anzunehmen, daß die erfindungsgemäß zu verwendende Substanz ähnlich wie Diethylentriaminpentaessigsäure (Aisen and Listowsky (1980) Annu. Rev. Biochem., Vol. 49: 357 - 393) wegen seines stark hydrophilen Charakters nicht in die Zelle eindringen und deshalb nur freie, d. h. nicht in die Zelle inkorporierte Metalle oder Ionen komplexieren kann. Von zum Beispiel Desferrioxamin ist dagegen bekannt, daß es in die Zelle einzudringen vermag. Da die Virusvermehrung aus dem Inneren der Zelle heraus erfolgt, mußte davon ausgegangen werden, daß ein hemmender Wirkstoff auch in die Zelle eindringen muß, um wirksam zu werden. Überraschenderweise ist jedoch gemäß in vitro-Versuchen in der Zellkultur die erfindungsgemäße Substanz dennoch wirksam.

Insbesondere überraschend war der Effekt, daß EDDS neben der antiviralen Wirkung auch eine immunsuppressive Wirkung entfaltet. Die immunsuppressive Wirkung äußert sich in der Inhibierung der durch Phytohaemagglutinin stimulierten Lymphocytenproliferation.

Fig. 1 zeigt die konzentrationsabhängige Inhibition der Lymphocytenproliferation. Dabei wird zwischen 30 μ M und 100 μ M (entsprechend nicht toxischer Konzentrationen) EDDS eine fast quantitative Inhibition erzielt.

Gegenüber der Substanz Diethylentriaminpentaessigsäure ist die erfindungsgemäße, zu verwendende Substanz hinsichtlich ihrer antiviralen Aktivität deutlich wirksamer. Gegenüber der Substanz Desferrioxamin ist die erfindungsgemäße Substanz um den Faktor 30 wirkungsvoller.

Weiterhin ist überraschend, daß lediglich die erfindungsgemäße Substanz (S,S-Form) als Medikament einsetzbar ist. Nicht dagegen sind die anderen Formen einschließlich der Modifikationen (Propylen und Glutamat) gegen Cytomegalieviren erfolgreich einsetzbar.

Der antivirale Effekt der erfindungsgemäßen Substanz läßt sich durch Zusetzen von Eisen(II)- und Eisen(III)-Ionen modulieren. Die antivirale Aktivität wird um etwa den Faktor 2 bis 3 herabgesetzt, jedoch nicht vollständig aufgehoben. Somit wird offensichtlich, daß die Eisenchelatbildung einen beobachtbaren Effekt bei der Wirkung als antivirales Mittel aufweist, jedoch wird auch offensichtlich, daß dieser Effekt allein nicht ausreicht, um die antivirale Wirkung zu erklären.

Überraschenderweise hat sich herausgestellt, daß die erfindungsgemäße Substanz sehr selektiv gegen Cytomegalieviren einsetzbar ist. Konzentrationen an erfindungsgemäßer Substanz, die antiviral wirksam sind, haben keinen Einfluß

auf das Zellwachstum. Der therapeutische Index ist also sehr hoch. Somit hat die erfindungsgemäße Substanz eine hohe klinische Bedeutung.

Ungewöhnlich ist, daß die erfindungsgemäße Substanz gegen Cytomegalieviren einsetzbar ist, jedoch keinen Einfluß auf bestimmte andere Viren, wie Adenoviren (ATTC-Stamm: GB Typ 3), Varizella zoster-Viren (ATCC-Stamm: MacIntyre) und Herpes simplex-Viren (HSV-Vero) hat.

Die Erfindung umfaßt weiterhin das erfindungsgemäße Ethylen-diaminsuccinat und dessen Salze und/oder sauren Gruppen. Die Salze ergeben sich zwangsläufig durch die Umgebung und den Aggregatzustand der Substanz.

Bevorzugt ist das (S,S)-N,N'-Ethyldiamindisuccinat, bei dem die Salze Kationen aus der Gruppe mit den Ordnungszahlen 3-5, 11-13, 19-29, 37-49 oder 55-81 umfassen oder Gemische der zuvor aufgezählten Kationen umfassen.

Stärker bevorzugt ist das (S,S)-N,N'-Ethyldiamindisuccinat, bei dem die Kationen aus der Gruppe von Magnesium(II)-, Aluminium(III)-, Calcium(II)-, Mangan(II)-, Eisen(II)-, Eisen(III)-, Cobalt(II), Nickel(II)-, Kupfer(II)-, Zink(II)-Ionen und weiterhin Lithium-, Kalium- und Natrium-Ionen ausgewählt sind oder Mischungen dieser zuvor genannten Ionen sind. Besonders bevorzugt sind weiterhin Lithium-, Mangan(II)-, Calcium(II)-, Kalium- und Natrium-Ionen.

Daneben ist das (S,S)-N,N'-Ethyldiamindisuccinat bevorzugt, bei dem die Salze organische Kationen umfassen.

Mehr bevorzugt ist das (S,S)-N,N'-Ethyldiamindisuccinat, bei dem die Kationen aus der Gruppe der primären; sekundären oder tertiären Amine (z. B. Ethanolamin, Diethanolamin, Triethanolamin, Morpholin, Glucamin, N,N-Dimethylglucamin und N-Methylglucamin), Lysin, Arginin oder Ornithin ausge-

wählt sind oder die Kationen Gemische der zuvor angeführten Kationen sind.

Eine Mischung aus organischen und anorganischen Salzen wird von der Erfindung mitumfaßt.

Als Medikament ist die Substanz (S,S)-N,N'-Ethyldiamindisuccinat bevorzugt, wenn sie eine Zusammensetzung mit pharmakologisch verträglichen Hilfs- und Trägerstoffen bildet. Derartige Hilfs- und Trägerstoffe sind in Remington's Pharmaceutical Science, 15th ed. Mack Publishing Company, East Pennsylvania (1980) beschrieben. Die Zusammensetzungen können nach bekannten Verfahren hergestellt werden.

Das erfindungsgemäße (S,S)-N,N'-Ethyldiamindisuccinat besitzt pharmakologische Eigenschaften und ist deshalb als pharmazeutischer Wirkstoff verwendbar. Die Erfindung umfaßt ebenfalls ein Arzneimittel, das das (S,S)-N,N'-Ethyldiamindisuccinat enthält.

Insbesondere zeigt die erfindungsgemäße Substanz (S,S)-N,N'-Ethyldiamindisuccinat eine Wirkung gegenüber Cytomegalieviren.

Die erfindungsgemäße Substanz zeigt eine antivirale Hemmung (IC_{50} -Wert) bei Konzentrationen von 4 $\mu\text{g/ml}$. Höhere Konzentrationen sind anwendbar, ohne das Testsystem zu stören. Somit ist die erfindungsgemäße Substanz in einer Konzentration von 0,5 bis 100 $\mu\text{g/ml}$ einsetzbar.

Die Versuchsergebnisse dieses in vitro-Tests zeigen, daß die erfindungsgemäße Substanz als Arzneimittel oder zur medizinischen Behandlung verwendet werden kann. Diese Versuchsergebnisse lassen sich von dem in vitro-Testsystem auf ein in vivo-System problemlos übertragen, da es sich bei dem antiviralen Testsystem um eine etablierte Versuchsanordnung handelt, die zum Nachweis der antiviralen Aktivität dient.

(Gerna et al., (1992), Antiviral. Res. Vol. 19: 333 - 345). EDDS kann erfindungsgemäß deshalb zur Behandlung bzw. Prävention von Cytomegalievirus-Infektionen eingesetzt werden, wobei die Substanz auch als Immunsuppressivum wirkt. Sie kann als Inhibitor bei Säugern, insbesondere bei Menschen, zur Behandlung der zuvor genannten Erkrankung verwendet werden.

Die Erfindung liefert weiterhin

- (i) die Verwendung einer erfindungsgemäßen Substanz (zur Herstellung eines Medikamentes) als Immunsuppressivum und/oder zur Behandlung von Cytomegalieviren bzw. Prävention;
- (ii) ein Verfahren zur Behandlung von Cytomegalieviren, welches Verfahren eine Verabreichung einer (S,S)-N,N'-Ethylendiamindisuccinat-Menge umfaßt, wobei die Ethylendiamindisuccinat-Menge einem Patienten gegeben wird, der ein solches Medikament benötigt;
- (iii) eine pharmakologische Zusammensetzung zur Behandlung oder Prävention von Cytomegalieviren, die eine erfindungsgemäße Substanz und wenigstens einen pharmazeutischen Hilfs- und/oder Trägerstoff umfaßt.

Für die therapeutische Wirkung sind unterschiedliche Dosen geeignet. Sie hängen beispielsweise von den verwendeten Salzen, vom Wirt, von der Art der Verabreichung und von der Art und der Schwere der zu behandelnden Zustände ab.

Im allgemeinen sind jedoch bei Tieren zufriedenstellende Resultate zu erwarten, wenn die täglichen Dosen einen Bereich von 1 bis 500 mg pro kg. Körpergewicht umfassen. Bei größeren Säugetieren, beispielsweise dem Menschen, liegt eine empfohlene tägliche Dosis im Bereich von 1 bis 50 mg pro kg Körpergewicht, am meisten bevorzugt ist eine Dosis von 5 bis

30 mg pro kg Körpergewicht. Zum Beispiel wird diese Dosiszweckmäßigerweise in Teildosen bis viermal täglich verabreicht. Zufriedenstellende Resultate sind zu erwarten, wenn die erfindungsgemäße Substanz subkutan oder intravenös verabreicht werden. Auch die orale Verabreichung ist möglich.

Beispiele

Die folgenden Beispiele erläutern die Erfindung, insbesondere die vorteilhaften Wirkungen der Substanz, ohne daß die Erfindung auf diese Beispiele zu beschränken ist.

Antivirale Aktivität: Verwendete Zellen und Viren

Menschliche Vorhautfibroblasten (human foreskin fibroblasts, HFF) werden in einem Nährmedium aus Eagle's minimal essential medium (EMEM) mit 10%-igem Zusatz von fötalem Kälberserum angezüchtet.

Es wird der CMV-Labor-Stamm AD169 eingesetzt. Die Viren werden in EMEM-Nährmedium mit 4%-igem Zusatz von fötalem Kälberserum vermehrt (Erhaltungsmedium). Der Virustiter wird durch Bestimmung von sogenannten immediate early antigen forming units (I.E.F.U.) ermittelt, die in dem Erhaltungsmedium gebildet werden (Gerna et al. (1992), Antiviral. Res., Vol. 19: 333 - 345).

Antivirale Wirkung

Die antivirale Wirkung der Substanzen auf die Vermehrung von Cytomegalieviren wird durch verschiedene Parameter bestimmt:

In einem ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay) -Test wird die Produktion an CMV-Late Antigenen ermittelt. Ausgedrückt wird dieses Ergebnis durch den IC_{50} -Wert, der die Konzentration an Wirkstoff repräsentiert, die die Produktionsrate des Antigens um 50% senkt. Die erfindungsgemäßen Sub-

stanzen haben einen IC_{50} -Wert von $4 \mu\text{g/ml} \pm 1 \mu\text{g/ml}$.

Die Zellvitalität wird in einer HFF-Zellkultur unter Verwendung eines MTT-Assays gemessen. Ausgedrückt wird das Ergebnis durch den TC_{50} -Wert, das ist die Konzentration, bei der 50% der getesteten Zellen noch vital sind. Sie beträgt in HFF-Zellen für die erfindungsgemäßen Substanzen $435 \mu\text{g/ml}$.

Aus beiden Werten wird der Quotient TC_{50}/IC_{50} gebildet, um den therapeutischen Index festzustellen. Dieser liegt bei den erfindungsgemäßen Substanzen bei 109 (Gerna et al. (1992) Antiviral Res. Vol. 19: 333 - 345).

Tabelle der Meßwerte:

Stoff	Inhibitorische Konzentration IC_{50} in $\mu\text{g/ml}$	Toxische Konzentration TC_{50} in $\mu\text{g/ml}$	Therapeutischer Index
(S,S)-N,N'-Ethylen-diamindisuccinat	4,0	435	109
(R,S)-N,N'-Ethylen-diamindisuccinat	46	$\geq 100^*$	$\geq 2,2$
(R,R)-N,N'-Ethylen-diamindisuccinat	41	$\geq 100^*$	$\geq 2,2$
(S,S)-N,N'-Propylendiamin-disuccinat	≥ 100	$\geq 100^*$	X
(R,R)-N,N'-Propylendiamin-disuccinat	≥ 100	$\geq 100^*$	X
(S,S)-N,N'-Ethylen-diamindiglutamat	≥ 100	$\geq 100^*$	X
(S,S)-N,N'-Propylendiamin-diglutamat	≥ 100	$\geq 100^*$	X
Desferrioxamin	4,1	12	3
Diethlyentriamin-pentaessigsäure	4,0	123	31

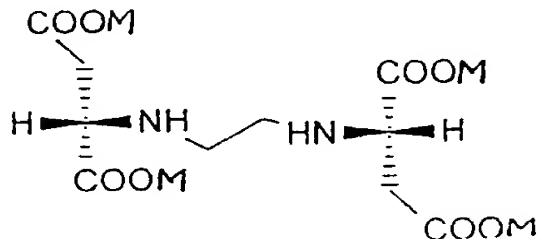
* Höchste geprüfte Stoffkonzentration
 X für den Patienten erreichbare Dosis nicht ermittelbar
 Synthese aller Derivate des N,N'-Diamindisuccinates und Glutamats nach J. A. NEAL und N. J. ROSE (1968), Inorg. Chem., Vol. 7: 2405 - 2412.

Immunsuppressive Wirkung

Für den Proliferationsassay wurden Lymphozytenkulturen in gemischten Lymphozytenkulturen (MLC) angesetzt oder mit 1% Phytohämagglutinin (PHA) in einem Gesamtvolumen von 200 μ l Kulturmedium angesetzt. 18 bis 20 Stunden vor der Messung wurden 0,1 μ Ci Methyl-[3 H]-Thymidin (NEN, Deutschland) hinzugefügt. Radioaktiv markierte DNA wurde auf Filtermembranen (Schleicher & Schüll, Deutschland) geerntet. Die Radioaktivität wurde mit einem Scintillation-Zähler quantifiziert (Zinsser, Deutschland). Die Probe PBL betrifft periphere Blutlymphozyten als Kontrollstandard.

A n s p r ü c h e

1. Verwendung von (S,S)-N,N'-Ethylendiamindisuccinat (EDDS) der Formel I

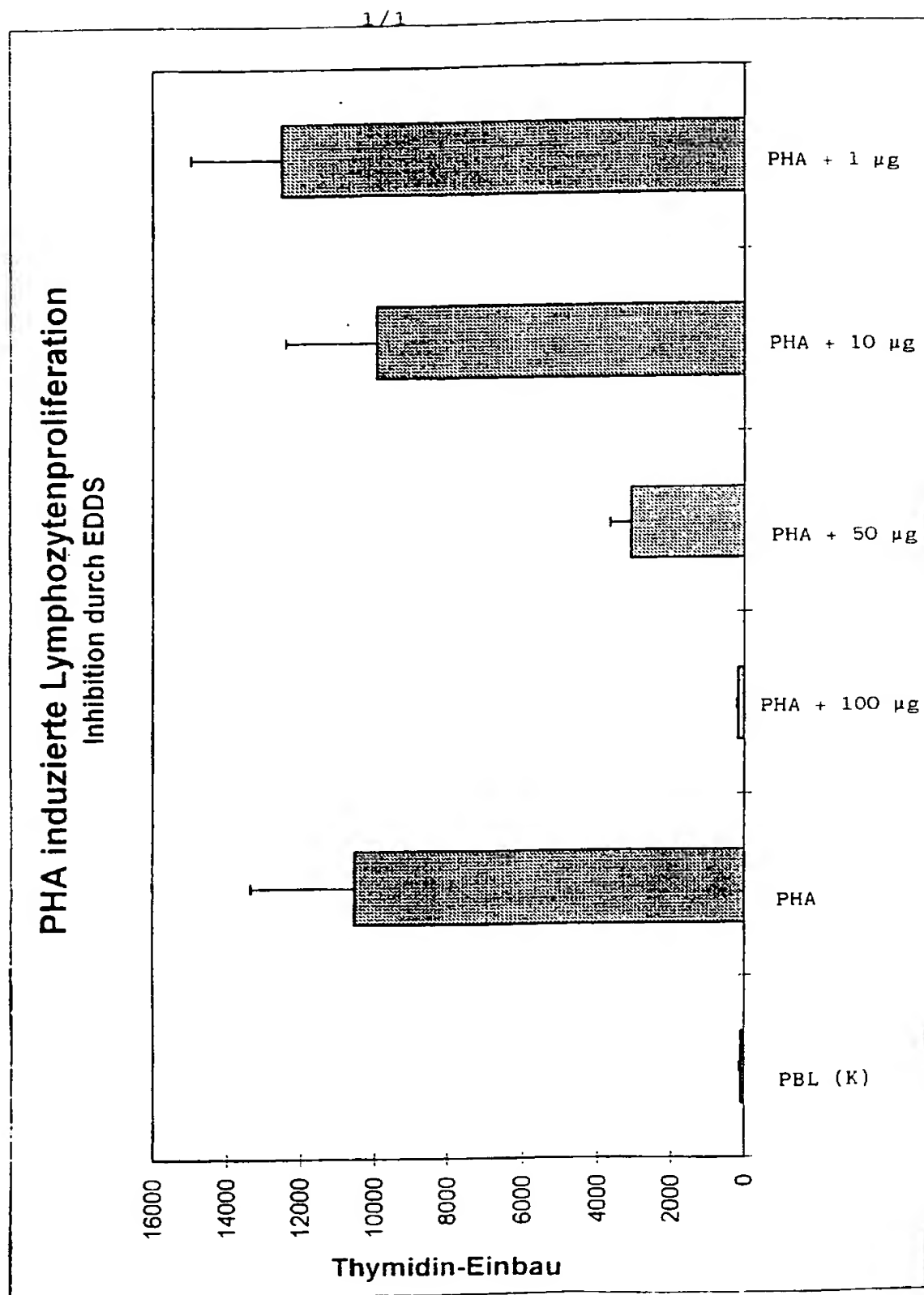


wobei M = H⁺ und/oder irgendein pharmazeutisch annehmbares Kation darstellt, zur Herstellung eines Arzneimittels zur Behandlung von Infektionen gegen Cytomegalieviren mit immunsuppressiven Eigenschaften.

2. Verwendung nach Anspruch 1, wobei EDDS eine Inhibition der Phytohaemagglutinin stimulierten Lymphocytenproliferation bewirkt.
3. Verwendung von EDDS nach mindestens einem der Ansprüche 1 und/oder 2, wobei M das Wasserstoffion und/oder ein Kation aus der Gruppe mit den Ordnungszahlen 3-5, 11-13, 19-29, 37-49 oder 55-81 umfaßt oder Gemische davon umfaßt.
4. Verwendung von EDDS nach Anspruch 3, wobei die Kationen aus der Gruppe von Magnesium(II)-, Aluminium(III)-, Calcium(II)-, Mangan(II)-, Eisen(II)-, Eisen(III)-, Cobalt(II)-, Nickel(II)-, Kupfer(II)-, Zink(II)-Ionen und weiterhin Lithium-, Kalium- und Natrium-Ionen

ausgewählt sind oder Mischungen dieser zuvor genannten Ionen sind.

5. Verwendung von EDDS nach mindestens einem der Ansprüche 1 und/oder 2, wobei M organische Kationen umfaßt.
6. Verwendung von EDDS nach Anspruch 5, wobei die Kationen aus der Gruppe der primären, sekundären oder tertiären Amine, Lysin, Arginin oder Ornithin ausgewählt sind oder die Kationen Gemische der zuvor angeführten Kationen sind.
7. Verwendung von EDDS nach einem der vorherigen Ansprüche, wobei das EDDS eine Zusammensetzung mit pharmakologisch verträglichen Hilfs- und Trägerstoffen bildet.



Figur 1

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No.

PCT/EP 97/02175

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC 6 A61K31/195

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 6 A61K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	J. ANTIBIOT., vol. 37, no. 4, April 1984, TOKYO, pages 426-427, XP000615485 NISHIKIORI, T. ET AL.: "PRODUCTION BY ACTINOMYCETES OF (S,S)-N,N'-ETHYLENEDIAMINEDISUCCINIC ACID, AN INHIBITOR OF PHOSPHOLIPASE C" cited in the application see the whole document ---	1-7
A	GB 2 288 812 A (THE PROCTER AND GAMBLE CO.) 1 November 1995 see the whole document -----	1-7

☐ Further documents are listed in the continuation of box C.☒ Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents:

- "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- "E" earlier document but published on or after the international filing date
- "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- "F" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.
- "&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

8 July 1997

Date of mailing of the international search report

25.07.97

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patendaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Ex. 31 631 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-1016

Authorized officer

Economou, D

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No.

PCT/EP 97/02175

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
GB 2288812 A	01-11-95	NONE	

A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES
IPK 6 A61K31/195

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierte Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)
IPK 6 A61K

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehorende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Beur. Anspruch Nr.
A	J. ANTIBIOT., Bd. 37, Nr. 4, April 1984, TOKYO, Seiten 426-427, XP000615485 NISHIKIORI, T. ET AL.: "PRODUCTION BY ACTINOMYCETES OF (S,S)-N,N'-ETHYLENEDIAMINEDISUCCINIC ACID, AN INHIBITOR OF PHOSPHOLIPASE C" in der Anmeldung erwähnt siehe das ganze Dokument ---	1-7
A	GB 2 288 812 A (THE PROCTER AND GAMBLE CO.) 1. November 1995 siehe das ganze Dokument -----	1-7

☐ Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C) zu entnehmen

☒ Siehe Anhang Patentfamilie

* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :

- * A* Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist
- * E* älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist
- * L* Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)
- * O* Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht
- * P* Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

* T* Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist

* X* Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderscher Tätigkeit beruhend betrachtet werden

* Y* Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderscher Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist

* &* Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

8. Juli 1997

Absenddatum des internationalen Recherchenberichts

25.07.97

Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde
Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: 31 631 691 nl.
Fax: (+31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

Economou, D

INTERNATIONAL RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP 97/02175

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
GB 2288812 A	01-11-95	KEINE	